

## Cara uji kimia - Bagian 6: Penentuan kadar logam berat merkuri (Hg) pada produk perikanan



© BSN 2016

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun serta dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN  
Email: [dokinfo@bsn.go.id](mailto:dokinfo@bsn.go.id)  
[www.bsn.go.id](http://www.bsn.go.id)

Diterbitkan di Jakarta



## Daftar isi

Daftar isi.....	i
Prakata .....	ii
Pendahuluan.....	iii
1 Ruang lingkup.....	1
2 Istilah dan definisi .....	1
3 Prinsip.....	1
4 Peralatan .....	1
5 Pereaksi.....	2
6 Preparasi contoh.....	3
7 Prosedur .....	3
8 Perhitungan produk basah dan kering .....	4
9 Pelaporan .....	5
10 Keamanan dan keselamatan kerja .....	5
Lampiran A .....	6
Bibliografi .....	9



## Prakata

Dalam rangka memberikan jaminan mutu dan keamanan pangan komoditas hasil perikanan yang akan dipasarkan di dalam dan luar negeri, maka perlu disusun suatu Standar Nasional Indonesia (SNI) metode uji yang dapat memenuhi jaminan tersebut.

Standar ini merupakan revisi dari: SNI 01-2354.6-2006, Cara uji kimia - Bagian 6: Penentuan kadar logam berat merkuri (Hg) pada produk perikanan.

Bagian yang direvisi adalah:

1. Penambahan prosedur destruksi dengan menggunakan *microwave*
2. Penambahan perhitungan kurva kalibrasi
3. Penambahan Lampiran informatif

Standar ini disusun oleh Komite Teknis 65-05: Produk Perikanan, yang telah dirumuskan melalui rapat teknis, dan rapat konsensus pada tanggal 17 september 2015 di Bogor yang dihadiri oleh anggota Komite Teknis 65-05: Produk Perikanan sebagai upaya untuk meningkatkan jaminan mutu dan keamanan pangan.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 10 Desember 2015 sampai dengan 10 Februari 2016 dengan hasil akhir RASNI.





## Pendahuluan

Penyusunan SNI ini, memperhatikan ketentuan dalam:

1. Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan RI Nomor PER.19/MEN/2010 tentang Pengendalian Sistem Jaminan Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan.
2. Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan RI Nomor HK.00.06.1.52.4011 Tahun 2009 tentang Penetapan Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Kimia dalam Makanan.







## Cara uji kimia - Bagian 6: Penentuan kadar logam berat merkuri (Hg) pada produk perikanan

### 1 Ruang lingkup

Standar ini digunakan untuk menentukan kadar logam berat merkuri pada produk perikanan.

### 2 Istilah dan definisi

#### 2.1

##### air deionisasi

air yang mempunyai kualifikasi sebagai berikut: total organik karbon lebih kecil dari 3 µg/L, daya resistensinya lebih besar atau sama dengan 18 megaohm-cm

#### 2.2

##### destruksi

proses perombakan jaringan daging dengan bantuan panas dan asam

#### 2.3

##### gas mulia

gas yang tidak bereaksi dengan medium disekelilingnya manusia

#### 2.4

##### atomisasi

proses pelepasan suatu atom dari suatu senyawa dengan bantuan energi panas

#### 2.5

##### produk perikanan

ikan termasuk biota perairan lainnya yang ditangani dan/atau diolah untuk dijadikan produk akhir yang berupa ikan segar, ikan beku dan olahan lainnya yang digunakan untuk konsumsi

### 3 Prinsip

Unsur merkuri (Hg) dilepaskan dari matriks contoh melalui tahap destruksi refluks dengan menggunakan asam sulfat pekat dan nitrat pekat dengan bantuan pemanas listrik atau destruksi *microwave* dengan menggunakan asam nitrat untuk mendapatkan unsur merkuri bermuatan positif ( $\text{Hg}^+$  atau  $\text{Hg}^{++}$ ). Penetapan jumlah merkuri dilakukan dengan spektrofotometer serapan atom tanpa nyala (*flameless SSA*) dimana unsur merkuri positif ini selanjutnya direduksi dengan *Sodium borohidrid* menjadi Hg netral dalam bentuk kabut uap merkuri. Kabut uap merkuri didorong oleh gas mulia argon menuju sel penyerapan pada SSA, dan berinteraksi dengan sinar yang berasal dari lampu katoda merkuri HDL (*Hollow Cathode Lamp*) atau EDL (*Electric Discharge Lamp*). Interaksi tersebut berupa serapan sinar yang besarnya dapat dilihat pada layar monitor SSA. Jumlah serapan sinar sebanding dengan kadar merkuri yang ada dalam contoh

### 4 Peralatan

- Timbangan analitik ketelitian 0,0001 g
- Pipet volumetri 1 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL, 50 mL\*
- Mikropipet\*
- Pipet tetes\*
- Wadah *polystyrene*



- f) Botol *Polypropylene*\*
- g) Sendok plastik\*
- h) Cawan Petri ukuran 15 mm x 100 mm\*
- i) Pisau\*
- j) Alumunium foil
- k) Gelas piala 25 mL, 100 mL, dan 250 mL\*
- l) Corong gelas\*
- m) Penyangga dan statif
- n) Desikator
- o) Pemanas listrik
- p) *Blender/homogenizer*
- q) Oven
- r) *Refrigerator*
- s) Labu alas bulat kapasitas 250 mL dengan pendingin\*
- t) Labu takar kapasitas 50 mL, 100 mL, 1000 mL\*
- u) Seperangkat alat *flameless* spektrofotometer serapan atom (*Atomic Absorption Spectrophotometer*)
- v) *Microwave digester*

**CATATAN\*** Semua peralatan yang dipergunakan harus terlebih dahulu direndam dalam HNO<sub>3</sub> : *air deionisasi* (1 : 9) kemudian dibilas dengan *air deionisasi*

## 5 Pereaksi

- a) Air deionisasi
- b) Asam klorida (HCl), *fuming* 37%
- c) Larutan HCl 3% (v/v)  
Pipet 84 mL HCl 37% (pekat) larutkan dalam labu takar 1 L dan tepatkan dengan air deionisasi
- d) *Natrium hidroksida* (NaOH) pellets
- e) NaOH 0,005% (w/v)  
Larutkan 0,05 g NaOH dalam 1 L *air deionisasi* dan tepatkan dengan air deionisasi
- f) *Natrium borohidrid* (NaBH<sub>4</sub>)  
NaBH<sub>4</sub> 0,02% (w/v) dalam NaOH 0,005% (w/v) (larutan reduktan)
- g) Larutkan 0,2 g NaBH<sub>4</sub> dalam 1 L NaOH 0,005%. Larutan disiapkan pada saat akan dilakukan analisa
- h) Asam nitrat (HNO<sub>3</sub>) 65%
- i) Asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 95%-97%
- j) larutan pengencer contoh HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
Campurkan 58 mL HNO<sub>3</sub> dengan 67 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dalam labu takar 1 L dan tepatkan dengan air *deionisasi* sampai tanda batas
- k) Larutan pengencer standar HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1+1) 20% (v/v)  
Campurkan 100 mL HNO<sub>3</sub> dengan 100 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, encerkan dengan *air deionisasi* dan tepatkan sampai 1 L
- l) Hidrogen Peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 30%
- m) Batu didih
- n) Larutan standar Merkuri
  - Larutan standar primer: 1000 mg/L
  - Larutan standar sekunder pertama (i): 10 mg/L  
Pipet 1 mL dari larutan standar primer 1000 mg/L, masukkan ke dalam labu takar 100 mL dan encerkan dengan larutan HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1+1) 20% (v/v)  
Larutan standar ini dapat disimpan selama 1 bulan di dalam botol *polypropylene* pada *refrigerator*.
  - Larutan standar sekunder kedua (ii): 1 mg/L  
Pipet 5 mL dari larutan standar sekunder pertama (i) masukkan ke dalam labu takar 50 mL dan encerkan dengan larutan HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1+1) 20% (v/v). Larutan standar ini dapat disimpan selama 1 bulan di dalam botol *polypropylene* pada



*refrigerator*

- Larutan standar sekunder ketiga (ii); 0,1 mg/L  
Pipet 5 mL dari larutan standar sekunder kedua (i) masukkan ke dalam labu takar 50 mL dan encerkan dengan larutan  $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{SO}_4$  (1+1) 20% (v/v). Larutan standar ini dapat disimpan selama 1 minggu di dalam botol *polypropylene* pada *refrigerator*
- Larutan standar kerja (1  $\mu\text{g/L}$ , 5  $\mu\text{g/L}$ , 10  $\mu\text{g/L}$ , 15  $\mu\text{g/L}$  dan 20  $\mu\text{g/L}$ )  
Pipet 0,5 mL, 2,5 mL, 5 mL, 7,5 mL dan 10 mL dari larutan standar sekunder ketiga (iii), masukkan ke dalam labu takar 50 mL dan encerkan dengan larutan  $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{SO}_4$  (1+1) 20% (v/v). Larutan standar kerja ini dibuat ketika akan melakukan analisa.
- Larutan standar kerja dapat dibuat sesuai dengan kondisi sampel

## 6 Preparasi contoh

### 6.1 Produk basah

Lumatkan/haluskan contoh hingga homogen dan tempatkan homogenat dalam wadah *polystyrene* yang bersih dan tertutup. Jika contoh tidak langsung diuji, simpan contoh dalam *freezer* sampai saatnya untuk dianalisa. Pastikan contoh masih tetap homogen sebelum ditimbang. Jika terjadi pemisahan antara cairan dan contoh, maka dilakukan pemisahan antara cairan dan contoh.

### 6.2 Produk Kering

Lumatkan/haluskan contoh hingga menjadi partikel kecil. Tempatkan contoh dalam wadah *polystyrene* yang bersih dan tertutup. Jika contoh tidak langsung diuji, simpan contoh dalam suhu ruang sampai saatnya untuk dianalisa

## 7 Prosedur

### 7.1 Destruksi contoh menggunakan refluks

- a) Timbang produk basah (subpasal 6.1) sebanyak 5 g atau produk kering (subpasal 6.2) sebanyak 0,2 g dan catat beratnya (W).
- b) Siapkan kontrol positif dengan cara sebagai berikut:
  - Untuk kontrol positif contoh basah (*spiked* 0,1 mg/kg), tambahkan 0,5 mL larutan standar merkuri 1 mg/L ke dalam contoh.
  - Untuk kontrol positif contoh kering (*spiked* 0,5 mg/kg), tambahkan 0,1 mL larutan standar merkuri 1 mg/L ke dalam contoh.
  - Untuk kontrol positif dengan konsentrasi *spiked* yang berbeda, tambahkan volume larutan standar sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan.
- c) Tambahkan 3 buah - 5 buah batu didih.
- d) Tambahkan 10 mg - 20 mg  $\text{V}_2\text{O}_5$
- e) Tambahkan berturut-turut 10 mL  $\text{HNO}_3$  65% dan 10 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  95% - 97%.
- f) Lakukan pemanasan dengan panas yang rendah sampai mendidih secara perlahan



selama kurang lebih 6 menit (untuk mencegah tumpahnya contoh), kemudian pemanasan dilanjutkan dengan panas yang lebih tinggi untuk menghasilkan larutan berwarna coklat kekuningan yang bening (*clearly yellowish brown*). Goyangkan labu selama digesti berlangsung sampai zat padat tidak ada lagi kecuali apungan lemak yang tampak setelah didinginkan pada suhu ruang selama kurang lebih 4 menit.

- g) Bilas pendingin dengan 15 mL air deionisasi. Tambahkan 2 tetes  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% melalui ujung atas pendingin, kemudian bilas pendingin dengan 15 mL air deionisasi.
- h) Dinginkan larutan pada suhu ruang (labu alas bulat dan pendingin harus tetap bersatu).
- i) Angkat labu dari pendingin, bilas leher labu alas bulat dengan air deionisasi. Pindahkan larutan ke dalam labu takar 100 mL kemudian tepatkan dengan air deionisasi.

## 7.2 Destruksi contoh menggunakan *microwave*

- a) Timbang contoh basah sebanyak 1 g atau contoh kering sebanyak 0,2 g – 0,3 g ke dalam tabung sampel (vessel) kemudian dicatat beratnya (W).
- b) Untuk kontrol positif (*spiked* 0,5 mg/kg), tambahkan 0,5 mL larutan standar Hg 1 mg/L ke dalam contoh kemudian divortex selama 1 menit.
- c) Untuk kontrol positif dengan konsentrasi *spiked* yang berbeda, tambahkan volume larutan standar sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan.
- d) Tambahkan 5 mL  $\text{HNO}_3$  65%.
- e) Lakukan destruksi dengan menggunakan program *microwave* yang sesuai dengan sampel yang digunakan.
- f) Pindahkan hasil destruksi ke labu takar 50 mL dan tepatkan sampai tanda batas dengan larutan pengencer  $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{SO}_4$ .

## 7.3 Tahap pembacaan SSA

- a) Siapkan larutan standar minimal dengan lima titik kadar 1  $\mu\text{g/L}$ , 5  $\mu\text{g/L}$ , 10  $\mu\text{g/L}$ , 15  $\mu\text{g/L}$  dan 20  $\mu\text{g/L}$ .
- b) Contoh, *spiked* dan larutan standar kemudian dibaca pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 253,7 nm.
- c) Tentukan kadar contoh berdasarkan kurva kalibrasi

## 8 Perhitungan produk kering dan produk basah

Masukkan nilai masing-masing area contoh dari hasil pembacaan ke persamaan garis kurva baku.

$$Y = a + bX$$

Keterangan:

- Y adalah absorbansi;
- a adalah intersep;
- b adalah *slope* (kemiringan garis);
- X adalah konsentrasi contoh yang didapat ( $\mu\text{g/L}$ )

Setelah didapat nilai X, kalikan dengan volume akhir dan dibagi dengan berat contoh.



$$\text{Kadar Merkuri (ug/g)} = \frac{(D - E) \times FP \times V \text{ (mL)} \times \frac{L}{1000 \text{ mL}}}{W \text{ (g)}}$$

Dengan:

D adalah kadar contoh (µg/L) dari hasil pembacaan SSA

E adalah kadar blanko contoh (µg/L) dari hasil pembacaan SSA

W adalah berat contoh (g)

V adalah volume akhir larutan contoh yang disiapkan (mL)

Fp adalah faktor pengenceran

**CATATAN 1** Jika hasil pembacaan kadar contoh dan *spiked* pada SSA lebih tinggi dari kadar larutan standar yang digunakan, maka lakukan pengenceran

**CATATAN 2** µg/g setara dengan mg/kg

## 9 Pelaporan

Jika angka desimal kurang dari 5, maka pembulatan ke bawah, tetapi bila lebih dari 5 pembulatan keatas.

### CONTOH

14,454 dibulatkan menjadi 14,45

14,466 dibulatkan menjadi 14,47

Jika angka ketiga di belakang koma 5, dan angka kedua genap, maka angka 5 tersebut menjadi hilang tetapi bila angka kedua ganjil maka pembulatan keatas.

### CONTOH

14,765 dibulatkan menjadi 14,76

14,475 dibulatkan menjadi 14,48

## 10 Keamanan dan keselamatan kerja

Untuk menjaga keamanan dan keselamatan kerja selama melakukan analisa maka perlu diperhatikan hal-hal sebagai berikut:

- Cuci tangan sebelum dan sesudah melakukan analisa
- Gunakan jas laboratorium selama bekerja
- Pastikan blower lemari asam dan blower SSA berfungsi dengan baik
- Pastikan aliran gas ditutup kembali setelah selesai analisa

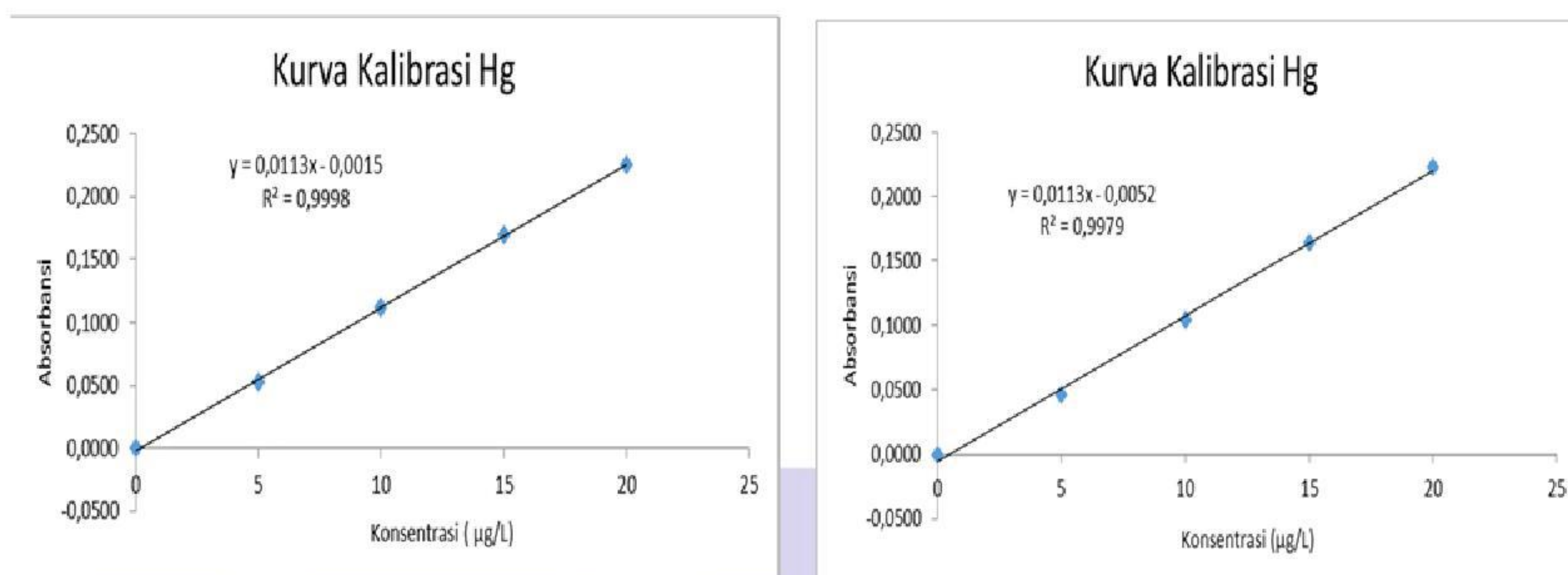


**Lampiran A**  
(Informatif)  
**Verifikasi penentuan Hg**

**Verifikasi Penentuan Hg dengan *Microwave Digestion System***

**A.1 Uji linearitas standar**

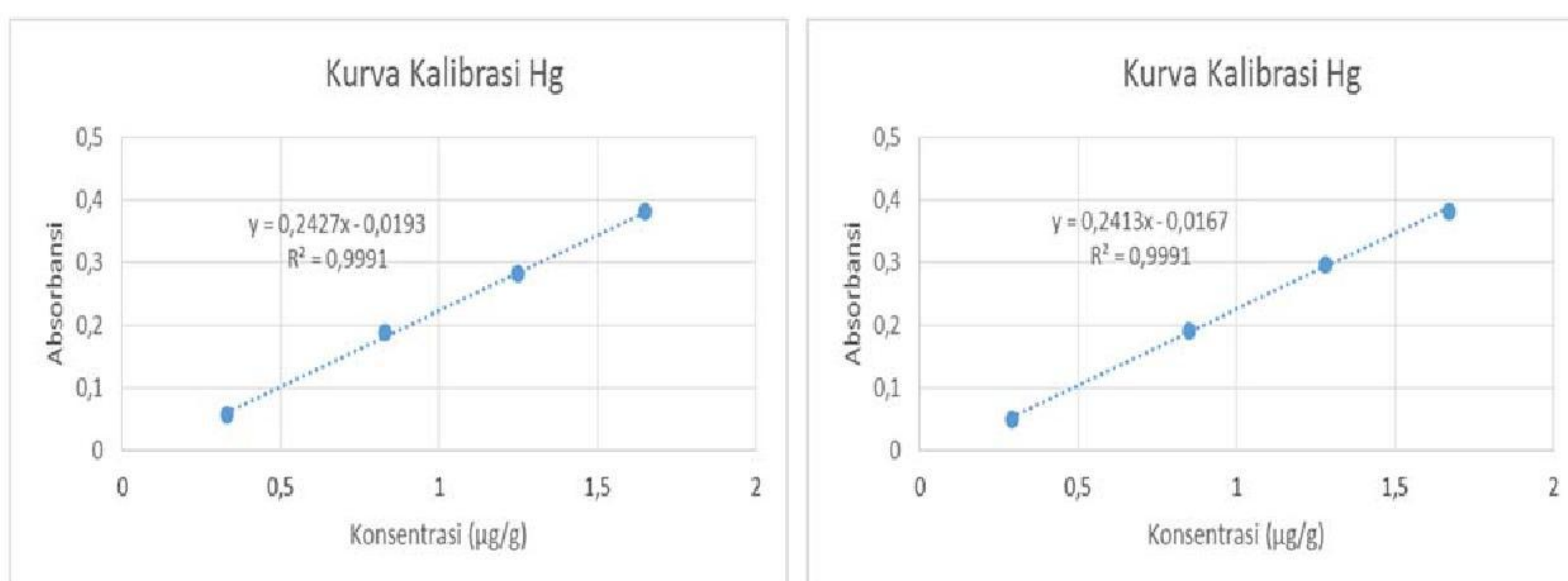
Uji linieritas dilakukan dengan cara membuat kurva kalibrasi dari larutan standar kerja Hg 1,0; 5,0; 10,0; 15,0 dan 20,0 µg/L, nilai koefisien regresi yang didapat adalah 0,9998 dan 0,9979



**Gambar A1. Kurva Kalibrasi Standar Merkuri**

**A.2 Uji linearitas *spiked* contoh**

Uji linieritas dilakukan dengan cara membuat kurva kalibrasi dari tiga *spiked* contoh 0,5 MRL, 1,0 MRL dan 1,5 MRL, nilai koefisien regresi yang didapat adalah 0,9991.



**Gambar A2. Kurva Kalibrasi *Spiked* Contoh**



### A.3 Uji batas deteksi merkuri

Pengujian blanko tujuh kali ulangan menghasilkan rata-rata konsentrasi 0,08 µg/g dengan SD 0,01 µg/g. Dari data tersebut maka dapat ditentukan batas deteksi (LOD = 0,11 µg/g) dan batas determinasi (LOQ = 0,14 µg/g)

Ulangan	Berat Contoh ( g )	Absorbansi Blank Sampel	Konsentrasi (µg/g)
1	1,0214	0,020	0,09
2	1,1611	0,019	0,08
3	1,0558	0,020	0,09
4	1,0103	0,018	0,08
5	1,0141	0,017	0,08
6	1,0252	0,019	0,09
7	1,0237	0,020	0,09
Rata2		0,019	0,08
SD		0,001	0,01

$$\text{LOD} = C \text{ rata-rata} + 3 \times \text{SD}$$

$$\text{LOD} = 0,08 + (3 \times 0,01)$$

$$\text{LOD} = 0,11 \text{ mg/Kg}$$

$$\text{LOQ} = C \text{ rata-rata} + 6 \times \text{SD}$$

$$\text{LOQ} = 0,08 + (6 \times 0,01)$$

$$\text{LOQ} = 0,14 \text{ mg/Kg}$$

### A.4 Uji akurasi dan presisi pengujian merkuri

Nilai akurasi dan presisi yang diperoleh menggunakan data hasil pengujian bahan baku banding CRM (*Certified Reference Material*) dengan melakukan tujuh kali ulangan. Akurasi menunjukkan kedekatan pengukuran terhadap nilai sebenarnya, akurasi mengukur kesesuaian antara hasil dan nilai sebenarnya. Hasil dapat dilihat dari nilai perolehan rata-rata sebesar 0,409 µg/g yang berarti masih masuk dalam rentang nilai yang tertera dalam CRM (DORM-4) sebesar  $0,410 \pm 0,055$  µg/kg. Nilai presisi hasil pengujian dapat dilihat dari nilai *Relative Standard Deviation* (RSD)) sebesar 7,35% yang berarti masih masuk dalam persyaratan dalam Rekomendasi IUPAC tentang *Relative Standard Deviation* (RSD) dengan persyaratan yang dapat diterima maksimum 32%.

Ulangan	Berat Contoh ( g )	Absorbansi Contoh	Konsentrasi (µg/g)
1	0,2511	0,0066	0,442
2	0,2554	0,0059	0,395
3	0,2541	0,0066	0,437
4	0,2526	0,0056	0,382
5	0,2530	0,0057	0,387
6	0,2512	0,0055	0,378
7	0,2508	0,0066	0,443
Rata2			0,409
SD			0,030
% RSD			7,35

### A.5 Uji perolehan kembali (*recovery*) pengujian merkuri

Uji recovery dengan menguji blanko sampel yang telah dispike larutan standar Hg pada 1 g contoh ikan dengan konsentrasi 1 µg/mL sebanyak 0,5 mL, nilai konsentrasi spike 0,5 µg/g



(ppm) dilakukan 7 ulangan diperoleh hasil rata-rata 0,83  $\mu\text{g/g}$  dengan hasil uji rata-rata konsentrasi blanko sampel 0,33  $\mu\text{g/g}$ , bila dibagi dengan nilai konsentrasi spike 0,50  $\mu\text{g/g}$  maka recovery yang diperoleh sebesar 99,57% yang berarti masih masuk dalam persyaratan *recovery* minimum untuk metode kuantitatif yaitu 80% sampai 110%. Uji recovery dilakukan untuk konsentrasi 1,0  $\mu\text{g/g}$  dan 1,5  $\mu\text{g/g}$ .

Ulangan	Berat Contoh	Absorbansi	Spiked	Konsentrasi Hasil Pengukuran	Recovery
	g	Abs	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	%
1	1,0141	0,181	0,50	0,82	99,12
2	1,0603	0,189	0,50	0,82	98,64
3	1,1365	0,200	0,50	0,81	96,21
4	1,0095	0,188	0,50	0,86	106,04
5	1,0355	0,192	0,50	0,85	105,15
6	1,0724	0,185	0,50	0,80	93,47
7	1,0242	0,182	0,50	0,82	98,37
Rerata		0,188	0,50	0,83	99,57

Ulangan	Berat Contoh	Absorbansi	Spiked	Konsentrasi Hasil Pengukuran	Recovery
	g	Abs	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	%
1	1,0393	0,284	1,0	1,24	91,18
2	1,0690	0,291	1,0	1,24	90,69
3	1,0460	0,296	1,0	1,28	95,57
4	1,0634	0,292	1,0	1,25	91,77
5	1,0307	0,275	1,0	1,21	88,27
6	1,0180	0,282	1,0	1,26	92,89
7	1,0289	0,283	1,0	1,25	91,99
Rerata		0,286	1,0	1,25	91,77

Ulangan	Berat Contoh	Absorbansi	Spiked	Konsentrasi Hasil Pengukuran	Recovery
	g	Abs	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	%
1	1,0319	0,392	1,50	1,67	89,18
2	1,0220	0,402	1,50	1,72	93,06
3	1,0042	0,382	1,50	1,67	89,39
4	1,0025	0,389	1,50	1,70	91,58
5	1,0232	0,377	1,50	1,62	85,92
6	1,0074	0,366	1,50	1,60	84,48
7	1,0114	0,357	1,50	1,55	81,51
Rerata		0,381	1,50	1,65	87,87



## Bibliografi

*Mercury in Fish Alternative Flameless Atomic Absorption Spectrophotometric Method 9.2.23. First Action 1977. Final Action 1978. In: 2000. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemistry (AOAC), 17th edition, Volume I. Chapter 9, p.36.*

*Mercury in Fish Alternative Digestion Method 9.2.24. First Action 1974. Final Action 1976 Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemistry AOAC International 2005, 17 th Ed 2005. Volume I. Chapter 9 p 37.*

